

平成 21 年 5 月 14 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590845
 研究課題名 (和文) 内因性心臓保護機構の分子解明
 —新しい心不全治療法の開発に向けた基盤研究
 研究課題名 (英文) Molecular Elucidation for Endogenous Cardioprotective Mechanism
 —Towards Discovery for New Cardiac Treatment
 研究代表者
 岸本 一郎 (KISHIMOTO ICHIRO)
 国立循環器病センター研究所・動脈硬化代謝内科・医長
 研究者番号：80312221

研究成果の概要：

心不全の発症および進展機構の詳細な解明とそれに基づく新しい治療法の開発には、心不全の病態に関わる新しい標的分子を探し出すことが大きな意味を持つ。心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) と脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) の情報伝達系は心不全の発症および進展に深く関与することが示唆されている。しかしながら、従来までは ANP・BNP の心臓作用の詳細は明らかではなかった。本研究では、まず ANP・BNP とその共通の受容体 (guanylyl cyclase (GC)-A) の情報伝達系が心臓を保護する詳細なメカニズムを検討し、ANP・BNP/GC-A 系が Gq たんぱく質とその心肥大促進シグナルを抑制的に調節することを明らかにした (平成 19 年度)。さらに、この作用の鍵となる重要因子として regulator of G protein signaling (RGS) に着目し、内因性ナトリウム利尿ペプチドが、RGS を介して心臓保護に働く機序を分子解明できた (平成 20 年度)。RGS は、心臓局所におけるアンジオテンシン系や交感神経系の情報伝達と密接に関わっており、ナトリウム利尿ペプチドが RGS を介してこれら心臓肥大促進系に対して拮抗的に作用するという内因性のフィードバック機序が初めて明らかにできた。本研究により明らかとなった内因性心臓保護の分子機構を基盤として、関連遺伝子診断や新規薬剤の臨床応用が展開することが期待される。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：循環器内科学、内分泌代謝学、生化学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、循環器内科学

キーワード：ナトリウム利尿ペプチド、RGS、心肥大、心臓リモデリング

1. 研究開始当初の背景

心不全の発症および進展機構の詳細な解明とそれに基づく新しい治療法の開発には、心不全の病態に関わる新しい標的分子を探し出すことが大きな意味を持つ。心不全修飾因

子として遺伝子発現が検討されたものの中で、心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) と脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) はどの報告においても必ず上位に位置しており、また ANP, BNP の遺伝子発現は顕著な心臓特異性を

示す（このため血中BNP濃度は心不全診断に臨床応用されている）。さらに、ANP・BNPの情報伝達系は心不全の発症および進展に深く関与することが示唆されている。しかしながら、従来まではANP・BNPの心臓作用の詳細は明らかではなかった。

2. 研究の目的

本研究では、ANP・BNPとその共通の受容体（guanylyl cyclase (GC)-A）の情報伝達系が心臓を保護する詳細なメカニズムを検討した。

3. 研究の方法

心臓におけるRGS-2とRGS-4の局在検討を各蛋白に対する特異抗体を用いた免疫染色で行った。また、これら蛋白の心筋細胞初代培養系への遺伝子導入にはAmara Nucleofector Systemのラット心筋細胞用キットを用いて行った。さらに、RGS心臓特異的過剰発現マウスを作製し、これをGC-A遺伝子欠損マウスとかけ合わせて、GC-A遺伝子欠損マウスの心臓にRGSを過剰発現させた動物を解析し、心臓リモデリングに及ぼすRGS系の慢性効果を検討した。

4. 研究成果

ANP・BNP/GC-A系がGqたんぱく質とその心肥大促進シグナルを抑制的に調節することを明らかにした（平成19年度）。さらに、この作用の鍵となる重要因子としてregulator of G protein signaling (RGS)に着目し、内因性ナトリウム利尿ペプチドが、RGSを介して心臓保護に働く機序を分子解明できた（平成20年度）。RGSは、心臓局所におけるアンジオテンシン系や交感神経系の情報伝達と密接に関わっており、ナトリウム利尿ペプチドがRGSを介してこれら心臓肥大促進系に対して拮抗的に作用するという内因性のフィードバック機序が初めて明らかにできた（下図参照 Circulation, 2008より）。内因性の抑制因子に着目してその完全な分子作用機構を解明することは、国内外を問わず新しい試みであり、大きな成果が得られたと考えている。また、本研究により明らかとなった内因性RGSの心臓における意義は、RGS関連の遺伝子診断や新規薬剤の臨床応用を加速させる基盤となることが期待される。

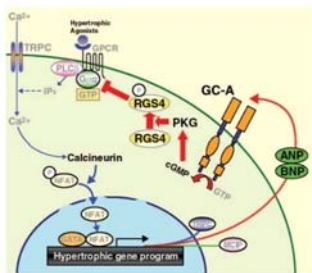


Figure 7. Mechanism of GC-A-mediated inhibition of cardiac hypertrophy suggested from the findings of this and previous studies. Cardiac hypertrophic agonists, such as Ang II and ET-1, stimulate GPCR and activate PLC-β. Subsequent production of IP₃ promotes elevation of intracellular Ca²⁺ levels sufficient to activate the calcineurin-regulated phosphatase calcineurin (recent studies reported that TRPC channel activity may be involved in the activation). Activated calcineurin then dephosphorylates NFAT, which facilitates the nuclear translocation of the transcription factor. NFAT and GATA then cooperatively activate transcription of the hypertrophic gene program, including the ANP and BNP genes. The MCP1 and TRPC genes are also targets of calcineurin signaling. We propose that endogenous ANP and BNP mediate antihypertrophic effects through GC-A/PLC-β signaling-dependent RGS4 phosphorylation and activation, which leads to association of RGS4 with G_q, increase in GTPase activity of G_q, inhibition of calcineurin-NFAT signaling, and repression of hypertrophy-related gene transcription.

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（英文11件、和文2件、計13件）

①Makino H, Okada S, Nagumo A, Sugisawa T, Miyamoto Y, Kishimoto I, Kikuchi-Taura A, Soma T, Taguchi A, Yoshimasa Y.

Decreased circulating CD34⁺ cells are associated with progression of diabetic nephropathy. Diabet Med.

2009Feb;26(2):171-3.

PubMed PMID: 19236621.

②Kishimoto I, Tokudome T, Horio T, Soeki T, Chusho H, Nakao K, Kangawa K.

C-type natriuretic peptide is a Schwann cell-derived factor for development and function of sensory neurones.

J Neuroendocrinol.

2008 Nov;20(11):1213-23. Epub

2008 Aug 22. PubMed PMID: 18752656.

③Zhang Q, Saito Y, Naya N, Imagawa K, Somekawa S, Kawata H, Takeda Y, Uemura S, Kishimoto I, Nakao K.

The specific mineralocorticoid receptor blocker eplerenone attenuates left ventricular remodeling in mice lacking the gene encoding guanylyl cyclase-A.

Hypertens Res.

2008 Jun;31(6):1251-6.

PubMed PMID: 18716375.

④Makino H, Okada S, Nagumo A, Sugisawa T, Miyamoto Y, Kishimoto I, Akie TK, Soma T, Taguchi A, Yoshimasa Y. Pioglitazone treatment stimulates

Circulating CD34-positive cells in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract.*

2008 Sep;81(3):327-30. Epub 2008 Jul 17. PubMed PMID: 18639363.

⑤Schwenke DO, Tokudome T, Kishimoto I, Horio T, Shirai M, Cragg PA, Kangawa K. Early ghrelin treatment after myocardial infarction prevents an increase in cardiac sympathetic tone and reduces mortality. *Endocrinology.* 2008 Oct;149(10):5172-6. Epub 2008 Jul 3. PubMed PMID: 18599547.

⑥Tokudome T, Kishimoto I, Horio T, Arai Y, Schwenke DO, Hino J, Okano I, Kawano Y, Kohno M, Miyazato M, Nakao K, Kangawa K. Regulator of G-protein signaling subtype 4 mediates antihypertrophic effect of locally secreted natriuretic peptides in the heart. *Circulation.* 2008 May 6;117(18):2329-39. Epub 2008 Apr 28. PubMed PMID: 18443239

⑦Usami S, Kishimoto I, Saito Y, Harada M, Kuwahara K, Nakagawa Y, Nakanishi M, Yasuno S, Kangawa K, Nakao K. Association of CT dinucleotide repeat polymorphism in the 5'-flanking region of the guanylyl cyclase (GC)-A gene with essential hypertension in the Japanese. *Hypertens Res.* 2008 Jan;31(1):89-96. PubMed PMID:18360023.

⑧ Soeki T, Kishimoto I, Schwenke DO,

Tokudome T, Horio T, Yoshida M, Hosoda H, Kangawa K.

Ghrelin suppresses cardiac sympathetic activity and prevents early left ventricular remodeling in rats with myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008Jan;294(1):H426-32. Epub 2007 Nov 16. PubMed PMID:18024547.

⑨Okada S, Makino H, Nagumo A, Sugisawa T, Fujimoto M, Kishimoto I, Miyamoto Y, Kikuchi-Taura A, Soma T, Taguchi A, Yoshimasa Y. Circulating CD34-positive cell number is associated with brain natriuretic peptide level in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2008 Jan;31(1):157-8. Epub 2007 Oct 24. PubMed PMID:17959862.

⑩Schwenke DO, Tokudome T, Shirai M, Hosoda H, Horio T, Kishimoto I, Kangawa K. Exogenous ghrelin attenuates the progression of chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in conscious rats. *Endocrinology.* 2008 Jan;149(1):237-44. Epub 2007 Oct 4. PubMed PMID: 17916633.

⑪Nakanishi M, Harada M, Kishimoto I, Kuwahara K, Kawakami R, Nakagawa Y, Yasuno S, Usami S, Kinoshita H, Adachi Y, Fukamizu A, Saito Y, Nakao K. Genetic disruption of angiotensin II type 1a receptor improves long-term survival of mice with chronic severe aortic

regurgitation. Circ J.

2007 Aug;71(8):1310-6.

PubMed PMID: 17652901

⑫ナトリウム利尿ペプチド系の基礎と新たな展開の可能性 岸本一郎、徳留健、寒川賢治

循環器科 2008;64(5);411-423

⑬内因性ナトリウム利尿ペプチドの心保護作用－遺伝子改変マウスからのレッスン 徳留健、岸本一郎、堀尾武史、荒井勇二、河野雄平、寒川賢治

循環器病研究の進歩 2007;18(1);40-52

[学会発表] (計 4 件)

①発表者：岸本一郎

発表標題：2型糖尿病患者における無症候性心筋虚血の関連因子の検討

学会等名：第45回日本糖尿病学会地方会

発表年月日：2008年11月22日

発表場所：神戸国際会議場

②発表者：岸本一郎

発表標題：2型糖尿病患者の血中B型ナトリウム利尿ペプチド(BNP)濃度に及ぼす肥満の影響

学会等名：第29回日本肥満学会

発表年月日：2008年10月17日

発表場所：iichiko総合文化センター

③発表者：岸本一郎

発表標題：心筋梗塞におけるグレリンの効果

学会等名：第31回高血圧学会総会

発表年月日：2008年10月11日

発表場所：ロイトン札幌

④発表者：徳留健

発表標題：内因性ANP, BNPの血管新生、血管形成における役割

学会等名：第31回高血圧学会総会

発表年月日：2008年10月9日

発表場所：ロイトン札幌

[図書] (計 1 件)

ペプチドと創薬 寒川賢治、南野直人編
循環器疾患におけるCNPの意義 岸本一郎、添木武、徳留健、堀尾武史、寒川賢治

ISSN 1349-2527, pp143-147

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

なし

○取得状況 (計 件)

なし

[その他]

今回得られた成果は、日本経済新聞 2008年5月20日に掲載され、ひろく日本国民に周知した。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岸本 一郎 (KISHIMOTO ICHIRO)

国立循環器病センター研究所・

動脈硬化代謝内科・医長

研究者番号：80312221

(2) 研究分担者

徳留 健 (TOKUDOME TAKESHI)

国立循環器病センター研究所・病因部・室長

研究者番号：00443473

(3) 連携研究者

なし